

DOCKET NO.: 221312US0PCT

**IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE**

IN RE APPLICATION OF: Shoji TAKAKURA et al.

SERIAL NO.: NEW U.S. PCT APPLICATION

FILED: HERewith

INTERNATIONAL APPLICATION NO.: PCT/JP00/06873

INTERNATIONAL FILING DATE: October 2, 2000

FOR: REMEDIES FOR INTRACTABLE WOUND

**REQUEST FOR PRIORITY UNDER 35 U.S.C. 119  
AND THE INTERNATIONAL CONVENTION**Assistant Commissioner for Patents  
Washington, D.C. 20231

Sir:

In the matter of the above-identified application for patent, notice is hereby given that the applicant claims as priority:

<b><u>COUNTRY</u></b>	<b><u>APPLICATION NO</u></b>	<b><u>DAY/MONTH/YEAR</u></b>
Japan	11-289247	12 October 1999

Certified copies of the corresponding Convention application(s) were submitted to the International Bureau in PCT Application No. PCT/JP00/06873. Receipt of the certified copy(s) by the International Bureau in a timely manner under PCT Rule 17.1(a) has been acknowledged as evidenced by the attached PCT/IB/304.

Respectfully submitted,  
OBLON, SPIVAK, McCLELLAND,  
MAIER & NEUSTADT, P.C.



Norman F. Oblon  
Attorney of Record  
Registration No. 24,618  
Surinder Sachar  
Registration No. 34,423



22850

(703) 413-3000  
Fax No. (703) 413-2220  
(OSMMN 1/97)



;

10/088525

PCT/JP 00/06873

JP 00/6873 日本国特許庁

02.10.00

PATENT OFFICE  
JAPANESE GOVERNMENT

4  
別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されて  
いる事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed  
with this Office.

出願年月日

Date of Application:

1999年10月12日

REC'D 17 NOV 2000

出願番号

Application Number:

平成11年特許願第289247号

WIPO

PCT

出願人

Applicant (s):

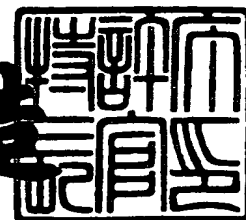
藤沢薬品工業株式会社

PRIORITY  
DOCUMENT  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

2000年11月 6日

特許庁長官  
Commissioner,  
Patent Office

及川耕造



出証番号 出証特2000-3089987

【書類名】 特許願

【整理番号】 FP04955-00

【提出日】 平成11年10月12日

【あて先】 特許庁長官 殿

【国際特許分類】 A61K

【発明者】

    【住所又は居所】 豊中市北桜塚 2 - 1 - 3 4 - 4 0 1

    【氏名】 高倉 昭治

【発明者】

    【住所又は居所】 西宮市熊野町 4 - 2 0 - 2 2 1

    【氏名】 生熊 恭子

【特許出願人】

    【識別番号】 000005245

    【氏名又は名称】 藤沢薬品工業株式会社

    【代表者】 青木 初夫

【手数料の表示】

    【予納台帳番号】 016621

    【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

    【物件名】 明細書 1

    【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 難治性創傷の治療剤

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 ヒト白血球エラスターゼ阻害活性を有する物質を有効成分とする難治性創傷の治療剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

この発明はヒト白血球エラスターゼ阻害活性を有する物質を有効成分とする難治性創傷の治療剤に関するものである。

【0002】

この発明者は、ヒト白血球エラスターゼ阻害活性を有する物質が難治性創傷の治療に有効であるという新知見を得、この発明を完成した。

【0003】

【発明の実施の形態】

この発明は、ヒト白血球エラスターゼ阻害活性を有する物質を有効成分とする難治性創傷の治療剤である。

この発明の難治性創傷の治療剤において有効成分として使用できるヒト白血球エラスターゼ阻害活性を有する物質は、ヒト白血球エラスターゼ阻害活性を有する物質であればいずれでもよい。また、この発明で使用可能なヒト白血球エラスターゼ阻害活性を有する物質には、直接的な阻害のみならず、白血球の浸潤の抑制やエラスターゼ産生阻害により間接的に白血球エラスターゼ活性を阻害する物質も含まれる。すなわち、そのような活性を有する物質は種々知られているが、それら公知の物質を使用することができるのみならず、ヒト白血球エラスターゼ阻害活性を有するものであれば、新規物質も使用可能である。これらのうち、特に好適な化合物を以下に例示する。

【0004】

(1) WS7622Aモノもしくはジ硫酸エステルおよびそれらの医薬として許容される塩類：それらのうち、WS7622Aジ硫酸エステルの二ナトリウム塩

およびWS7622Aジ硫酸エステルの二カリウム塩はそれぞれ下記の物理化学的性質を有する公知物質である（特開平4-279600号公報）。

【0005】

WS7622Aジ硫酸エステルの二ナトリウム塩：

外観：無色の結晶

溶解性：可溶：水、メタノール

不溶：クロロホルム、n-ヘキサン

融点：257～263℃（分解）

比旋光度： $[\alpha]_D^{23} +37.5^\circ$  (C=1、メタノール)

分子式： $C_{47}H_{61}N_9O_{19}S_2Na_2$

元素分析：

計算値： $(C_{47}H_{61}N_9O_{19}S_2Na_2 \cdot 6H_2O)$ として：

C 44.30, H 5.77, N 9.89, S 5.03, Na 3.61 %

実測値：C 44.98, H 5.90, N 10.06, S 5.00, Na 3.98 %

分子量：FAB-MS  $m/z$  1188  $(M+Na)^+$

薄層クロマトグラフィー：

【表1】

固定相	展開溶媒	Rf値
シリカゲル (メルク Art 5715)	$CHCl_3-CH_3OH-H_2O$ (65:25:4)	0.11
	n-ブタノール-酢酸-水 (4:2:1)	0.29

赤外吸収スペクトル：

$\nu_{\max}^{KBr}$  3360, 2960, 1735, 1660, 1640, 1530, 1500, 1380, 1250, 1200,  
1060, 1030, 940, 890  $cm^{-1}$

【0006】

$^1H$ 核磁気共鳴スペクトル：

(400MHz,  $D_2O$ )  $\delta$

7.50 (1H, s)

7.27	(1H,s)
7.33-7.24	(3H,m)
6.94	(1H,q,J=7Hz)
6.85	(2H,br d,J=8Hz)
5.53	(1H,m)
5.37	(1H,m)
4.80	(1H,br s)
4.63-4.57	(2H,m)
4.53	(1H,m)
4.06	(1H,m)
3.99	(1H,d,J=10Hz)
3.56	(1H,br d,J=14Hz)
3.46	(1H,m)
2.97	(3H,s)
2.97-2.88	(2H,m)
2.72	(1H,m)
2.59	(1H,m)
2.51-2.38	(2H,m)
2.09-1.91	(4H,m)
1.82-1.60	(3H,m)
1.77	(3H,d,J=7Hz)
1.50	(3H,d,J=6.5Hz)
1.40	(1H,m)
1.11	(6H,d,J=7Hz)
0.99	(3H,d,J=6.5Hz)
0.97	(3H,d,J=6.5Hz)

【 0 0 0 7 】

<sup>13</sup>C核磁気共鳴スペクトル :

(100MHz,D<sub>2</sub>O) δ

183.6	(s)
177.9	(s)
177.7	(s)
174.8	(s)
173.8	(s)
173.3	(s)
172.4	(s)
167.8	(s)
161.5	(s)
145.5	(s)
144.9	(s)
139.6	(d)
139.0	(s)
137.0	(s)
136.0	(s)
132.3	(d) × 2
131.0	(d) × 2
129.6	(d)
127.4	(d)
125.9	(d)
77.4	(d)
75.1	(d)
63.8	(d)
62.7	(d)
59.1	(d)
55.9	(d)
54.9	(d)
51.9	(d)
41.9	(t)



37.2	(d)
36.9	(t)
34.1	(q)
32.3	(d)
31.9	(t)
31.8	(t)
31.2	(t)
27.5	(t)
23.7	(t)
21.7	(q)
21.4	(q) × 2
21.3	(q)
21.1	(q)
15.5	(q)

【 0 0 0 8 】

アミノ酸分析：

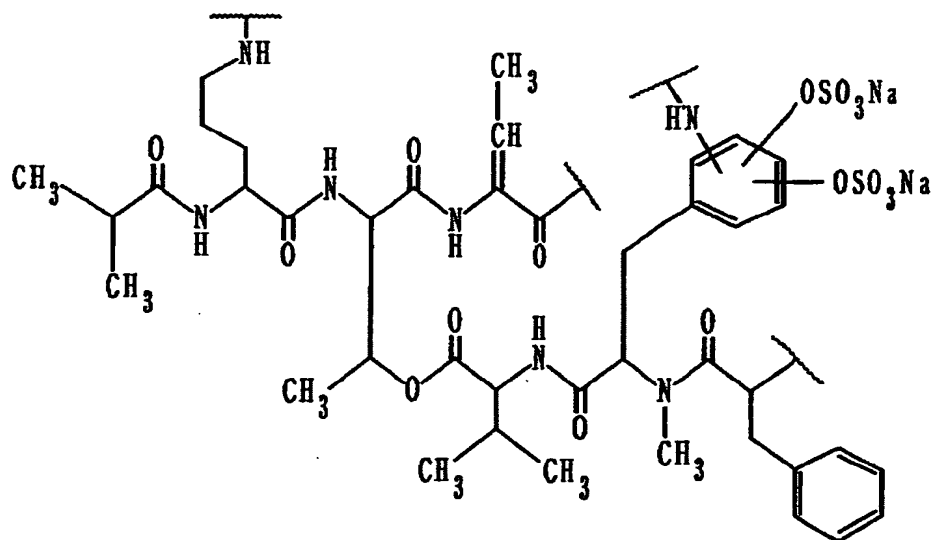
WS 7 6 2 2 Aジ硫酸エステルの二ナトリウム塩（1 m g）を6 規定塩酸（1 m l）、1 1 0℃、2 0時間の条件で加水分解し、減圧乾固して得た混合物を日立 8 3 5型自動車アミノ酸分析計により測定した。アミノ酸スタンダード標品として、和光純薬工業（株）のタイプH（和光コード 0 1 3 - 0 8 3 9 1）とタイプB（0 1 6 - 0 8 6 4 1）を使用した。

その結果、トレオニン、バリン、フェニルアラニン、オルニチン、アンモニアと数種の未知ニンヒドリン陽性成分が検出された。

【 0 0 0 9 】

WS 7 6 2 2 Aジ硫酸エステルの二ナトリウム塩の部分化学構造式として、次のような式が提案される。

【化 1】



【0010】

WS 7622A ジ硫酸エステルの二カリウム塩：

外観：無色無定形粉末

溶解性：可溶：水、メタノール

不溶：クロロホルム、n-ヘキサン

融点：230～237℃（分解）

比旋光度： $[\alpha]_D^{23} +34^\circ$  (C=1、メタノール)

分子式： $C_{47}H_{61}N_9O_{19}S_2K_2$

元素分析：

計算値： $(C_{47}H_{61}N_9O_{19}S_2K_2 \cdot 6H_2O)$ として：

C 43.21, H 5.63, N 9.65, S 4.91, K 5.99 %

実測値：C 43.96, H 5.44, N 9.97, S 5.09, K 4.49 %

分子量：FAB-MS  $m/z$  1236 (M+K)<sup>+</sup>

薄層クロマトグラフィー：

【表 2】

固定相	展開溶媒	Rf値
シリカゲル (メルク Art 5715)	$CHCl_3-CH_3OH-H_2O$ (65 : 25 : 4)	0.13

赤外吸収スペクトル：

$\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$  3360, 2960, 1735, 1660, 1640, 1530, 1500, 1405, 1380, 1250,  
1200, 1050, 1030, 940, 890  $\text{cm}^{-1}$

【 0 0 1 1 】

$^1\text{H}$ 核磁気共鳴スペクトル：

(400MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$

7.52	(1H, s)
7.28	(1H, s)
7.34-7.25	(3H, m)
6.96	(1H, q, J=7Hz)
6.87	(2H, br d, J=8Hz)
5.56	(1H, m)
5.40	(1H, m)
4.84	(1H, br s)
4.70-4.55	(3H, m)
4.10	(1H, m)
4.03	(1H, m)
3.60	(1H, br d, J=14Hz)
3.50	(1H, m)
3.00	(3H, s)
3.00-2.85	(2H, m)
2.76	(1H, m)
2.62	(1H, m)
2.55-2.40	(2H, m)
2.12-1.95	(4H, m)
1.90-1.65	(3H, m)
1.79	(3H, d, J=7Hz)
1.53	(3H, d, J=6.5Hz)
1.45	(1H, m)

1.14 (6H,d,J=7Hz)  
 1.02 (3H,d,J=6.5Hz)  
 1.00 (3H,d,J=6.5Hz)

【0012】

アミノ酸分析：

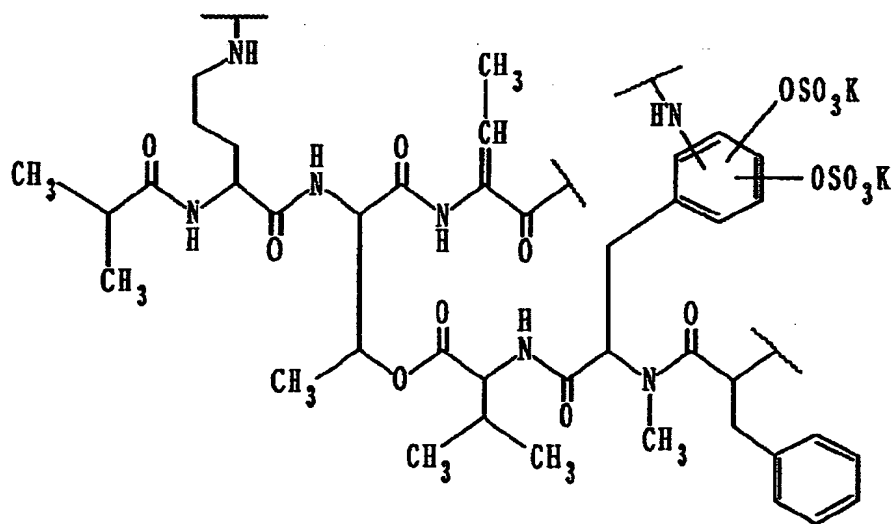
WS7622Aジ硫酸エステルの二カリウム塩（1mg）を6規定塩酸（1ml）、110℃、20時間の条件で加水分解し、減圧乾固して得た混合物を日立835型自動アミノ酸分析計により測定した。アミノ酸スタンダード標品として、和光純薬工業（株）のタイプH（和光コード番号013-08391）とタイプB（016-08641）を使用した。

その結果、トレオニン、バリン、フェニルアラニン、オルニチン、アンモニアと数種の未知のニンヒドリン陽性成分が検出された。

【0013】

WS7622Aジ硫酸エステルの二カリウム塩の部分化学構造式として、次のような式が提案される。

【化2】



【0014】

WS7622Aモノもしくはジ硫酸エステルの医薬として許容される塩としては、例えばアルカリ金属塩（たとえば、ナトリウム塩、カリウム塩など）、アル

カリ土類金属塩（たとえばカルシウム塩など）、アンモニウム塩、エタノールアミン塩、トリエチルアミン塩、ジシクロヘキシルアミン塩、ピリジン塩などの、無機塩基あるいは有機塩基とのモノもしくはジ塩を挙げることができる。

【0015】

上記WS7622Aモノもしくはジ硫酸エステル合成のための出発物質であるWS7622A物質もヒト白血球エラスターゼ阻害活性を有し、難治性創傷の治療剤として使用できる。該物質は次のような物理化学的性質を有する物質として知られている（特開平3-218387号公報、特開平4-279600号公報）。

【0016】

WS7622A物質の物理化学的性質：

外観：無色プリズム晶

物質の性質：酸性

呈色反応：陽性：硫酸セリウム反応、沃素蒸気反応、塩化第二鉄反応

陰性：ニンヒドリン反応、モーリッシュ反応、ドラーゲンドルフ反応

溶解性：可溶：メタノール、エタノール、n-ブタノール

微溶：クロロホルム、アセトン、酢酸エチル

不溶：水、n-ヘキサン

薄層クロマトグラフィー（TLC）：

クロロホルム-メタノール（5：1、v/v） R<sub>f</sub>値 0.51

アセトン-メタノール（10：1） R<sub>f</sub>値 0.62

（キーゼルゲル60F<sub>254</sub>シリカゲルプレート、メルク社）

【0017】

融点：250～252℃（分解）

比旋光度： $[\alpha]_D^{23} +36^\circ$ （C=1、メタノール）

UVスペクトル： $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$  287 nm（ $\epsilon=3600$ ）

$\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH-HCl}}$  287 nm

$\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH-NaOH}}$  298 nm

分子式： $\text{C}_{47}\text{H}_{63}\text{N}_9\text{O}_{13}$

元素分析：

計算値：(C<sub>47</sub>H<sub>63</sub>N<sub>9</sub>O<sub>13</sub>·2H<sub>2</sub>O)：

C 56.56, H 6.77, N 12.63 %

実測値：C 56.65, H 6.62, N 12.27 %

分子量：FAB-MS m/z 984 (M+Na)<sup>+</sup>

赤外吸収スペクトル：

$\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$  3400, 3300, 3060, 2980, 2940, 1735, 1710, 1690, 1670, 1660,  
1640, 1540, 1520, 1470, 1380, 1330, 1300, 1260, 1220, 1200,  
1160, 1130, 1090, 1000, 980, 940, 920 cm<sup>-1</sup>

【 0 0 1 8 】

<sup>1</sup>H核磁気共鳴スペクトル：

(400MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$

7.22-7.09	(3H,m)
6.88-6.77	(3H,m)
6.74	(1H,s)
6.46	(1H,s)
5.46	(1H,m)
5.18	(1H,s)
4.85	(1H,s)
4.77	(1H,m)
4.65	(1H,m)
4.50	(1H,m)
3.96	(1H,m)
3.91	(1H,d,J=9Hz)
3.60-3.47	(2H,m)
3.03	(1H,m)
2.90	(3H,s)
2.86	(1H,m)
2.59-2.49	(2H,m)

2.39	(1H,m)
2.29-2.16	(2H,m)
2.00	(1H,m)
1.84	(1H,m)
1.74	(3H,d,J=6Hz)
1.72-1.53	(4H,m)
1.44	(3H,d,J=6Hz)
1.12	(1H,m)
1.10	(6H,d,J=6Hz)
0.99	(3H,d,J=6Hz)
0.94	(3H,d,J=6Hz)

<sup>13</sup>C核磁気共鳴スペクトル:

(100MHz,CD<sub>3</sub>OD) δ

179.7	(s)
176.3	(s)
174.7	(s)
173.3	(s)
172.4	(s)
171.4	(s)
170.3	(s)
165.8	(s)
160.2	(s)
145.7	(s)
145.6	(s)
137.5	(s)
134.0	(d)
131.4	(s)
130.6	(d) × 2
129.8	(s)

129.1	(d) × 2
129.1	(s)
127.6	(d)
119.1	(d)
118.0	(d)
76.0	(d)
73.4	(d)
63.1	(d)
61.4	(d)
57.1	(d)
53.6	(d)
52.7	(d)
50.5	(d)
39.9	(t)
36.1	(t)
35.8	(d)
31.8	(q)
31.0	(t)
30.8	(d)
29.9	(t)
29.7	(t)
25.2	(t)
22.3	(t)
20.2	(q)
20.0	(q) × 2
19.7	(q)
19.5	(q)
13.3	(q)

【 0 0 1 9 】



アミノ酸分析：

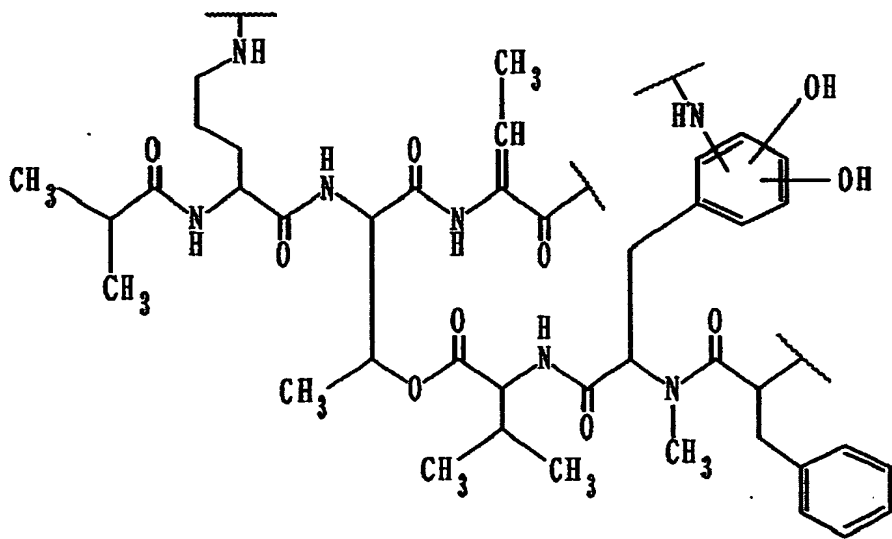
WS 7622A (1 mg) を 6 規定塩酸 (1 ml)、110℃、20 時間の条件下で加水分解し、減圧乾固して得た混合物を日立 835 型自動アミノ酸分析計により測定した。アミノ酸スタンダード標品として、和光純薬工業 (株) のタイプ H (和光コード番号 013-08391) とタイプ B (016-08641) を使用した。

その結果、トレオニン、バリン、フェニルアラニン、オルニチン、アンモニアと数種の未知ニンヒドリン陽性成分が検出された。

【0020】

WS 7622Aの部分化学構造式として、次のような式が提案される：

【化3】



【 0 0 2 1 】

WS7622A物質の塩としては、アルカリ金属塩（たとえば、ナトリウム塩、カリウム塩など）、アルカリ土類金属塩（たとえば、カルシウム塩など）、アンモニウム塩、エタノールアミン塩、トリエチルアミン塩、ジシクロヘキシルアミン塩などの、無機塩基または有機塩基との塩が挙げられる。

同様にヒト白血球エラスターゼ阻害活性を有するWS7622B、CおよびD物質、ならびにそれらの誘導体（特開平3-218387号公報）も難治性創傷の治療剤として使用できる。

【0022】

上記WS7622A物質（WS7622B、CおよびD物質も同様）は例えば  
ストレプトミセス・レシストミシフィクス（*Streptomyces resistomycificus*）No. 7622株の培養によって製造することが  
でき、該菌株はブダペスト条約に基く国際寄託機関である工業技術院生命工学工  
業技術研究所に、寄託番号FERM BP-2306の下に寄託されている。

【0023】

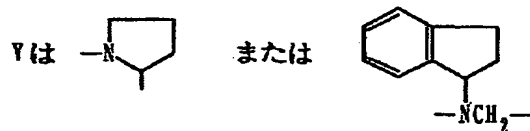
(2) 式：

【化4】



〔式中、 $R^1$  はカルボキシ、エステル化されたカルボキシおよびジ-低級アルキルカルバモイルから選ばれた1または2の置換基を有する低級アルキル基；フェニル部分にハロゲン、アミノまたはニトロ、アルキル部分にカルボキシまたはエステル化されたカルボキシを有していてもよいフェニル（低級）アルキル基；ハロフェニル基；モルホリノ基；またはモルホリノ（低級）アルキル基を、 $R^2$  および $R^3$  はそれぞれ低級アルキル基を、Xは-または-NH-を、

【化5】

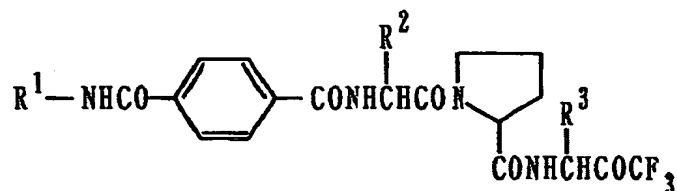


をそれぞれ意味する〕で示されるトリフルオロメチルケトン誘導体およびその医薬として許容される塩。

【0024】

(3) 式：

【化6】



(式中、 $R^1 \sim R^3$  は上記(2)の化合物と同じ意味)で示されるトリフルオロメチルケトン誘導体およびその医薬として許容される塩。

【0025】

(4) 3(RS) - [ [4 - (カルボキシメチルアミノカルボニル) フェニルカルボニル] - L-バリル - L-プロリル ] アミノ - 1, 1, 1-トリフルオロ - 4-メチル - 2-オキソペンタンまたはそのナトリウム塩

【0026】

上記(2) ~ (4)に記載の化合物は、例えば特開平4-297446号公報に記載されている公知化合物である。また、(2) ~ (4)の化合物の医薬として許容される塩としては、アルカリ金属塩(たとえばナトリウム塩、カリウム塩など)、アルカリ土類金属塩(たとえばカルシウム塩など)、アンモニウム塩、エタノールアミン塩、トリエチルアミン塩、ジシクロヘキシルアミン塩などの無機または有機塩基との塩およびメタンスルホン酸塩、塩酸塩、硫酸塩、硝酸塩、磷酸塩などの有機または無機酸付加塩を挙げることができる。

【0027】

前記定義の好適な例を以下に詳細に説明する。「低級」とは、特記ない限り、炭素原子数1ないし6を意味する。好適な「ハロゲン」の例としては弗素、塩素、臭素および沃素が挙げられる。好適な「低級アルキル基」としては、炭素原子1ないし6個を有する直鎖および分枝アルカンの残基、たとえばメチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、t-ブチル、ペンチル、ネオペンチル、ヘキシルなど、好ましくは炭素原子1ないし4個を有するものを挙げることができる。好適な「エステル化されたカルボキシ基」としては、アルキルエステル、すなわち、アルコキシカルボニル、たとえば低級アルコキシカルボニル(たとえばメトキシカルボニル、エトキシカルボニル、プロポキシカルボニル

、ブトキシカルボニル、tert-ブトキシカルボニルなど）およびフェニル（低級）アルキルエステル、すなわち、フェニル（低級）アルコキシカルボニル、たとえばベンジルオキシカルボニル、ならびにベンゾイル（低級）アルキルエステル、すなわち、ベンゾイル（低級）アルコキシカルボニル、たとえばベンゾイルメトキシカルボニルなどを挙げることができる。

【0028】

好適な「低級アルキレン基」としては、メチレン、エチレン、プロピレン、イソプロピレンなどを挙げることができる。好適な「ジ低級アルキルカルバモイル基」としては、N, N-ジメチルカルバモイル、N, N-ジエチルカルバモイルなどを挙げることができる。

【0029】

(5) 下記の物理化学的性質を有するFR901451物質およびその医薬として許容される塩：

外観：白色粉末

呈色反応：陽性：硫酸セリウム、ヨウ素蒸気、エールリッヒ、ニンヒドリン

陰性：モーリッシュ

溶解性：可溶：水、メタノール、ジメチルスルホキシド

難溶：アセトン

不溶：酢酸エチル

融点：243～245℃（分解）

比旋光度： $[\alpha]_D^{23} -15^\circ$  (C=0.65, H<sub>2</sub>O)

紫外線吸収スペクトル： $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}} \text{ nm}(\epsilon)$  275 (4300), 281 (4500), 290 (3900)

分子式：C<sub>60</sub>H<sub>79</sub>N<sub>13</sub>O<sub>18</sub>

元素分析：C<sub>60</sub>H<sub>79</sub>N<sub>13</sub>O<sub>18</sub>・10H<sub>2</sub>Oとしての

計算値：C 49.68, H 6.88, N 12.55

実測値：C 49.95, H 6.28, N 12.42

分子量：FAB-MS m/z 1270 (M+H)<sup>+</sup>

薄層クロマトグラフィー：

【表 3】

固定相	展開溶媒	Rf値
シリカゲル (メルク)	CHCl <sub>3</sub> : MeOH : NH <sub>4</sub> OH (15 : 11 : 5)	0.60
RP-18 (メルク)	70%含水メタノール	0.32

F T 赤外線吸収スペクトル :

$\nu^{\text{KBr max}}$  3390, 3070, 2970, 2880, 1740, 1660, 1530, 1450, 1410, 1380,  
1350, 1250, 1190, 1110, 1080, 1010, 750, 700, 670, 660, 620,  
600 cm<sup>-1</sup>

【 0 0 3 0 】

<sup>1</sup>H核磁気共鳴スペクトル :(400MHz, D<sub>2</sub>O)  $\delta$ 

7.70 (1H, d, J=7Hz)  
7.52 (1H, d, J=7.5Hz)  
7.44-7.23 (7H, m)  
7.22 (1H, s)  
5.59 (1H, q, J=7Hz)  
4.94 (1H, t, J=4.5Hz)  
4.85-4.74 (3H, m)  
4.58 (1H, dd, J=6Hz, 10Hz)  
4.45-4.35 (3H, m)  
4.30 (1H, dd, J=4Hz, 7Hz)  
4.07 (1H, m)  
3.99 (1H, dd, J=10Hz, 4.5Hz)  
3.66-3.50 (3H, m)  
3.44-3.25 (4H, m)  
3.16-2.93 (4H, m)  
2.87 (1H, d, J=18Hz)  
2.80-2.68 (2H, m)

2.56-2.48 (2H,m)  
 2.08 (1H,dd,J=16Hz, 4Hz)  
 1.87-1.53 (9H,m)  
 1.43 (3H,d,J=7Hz)  
 1.30 (3H,d,J=6.5Hz)  
 1.45-1.17 (4H,m)  
 0.95 (3H,d,J=6Hz)  
 0.84 (3H,d,J=6Hz)

【 0 0 3 1 】

<sup>13</sup>C核磁気共鳴スペクトル：

(100MHz.D<sub>2</sub>O) δ

177.2 (s)	130.0 (d) × 2	56.0 (d)	31.4 (t)
176.5 (s)	129.8 (d) × 2	54.1 (d)	28.8 (t)
174.6 (s)	128.5 (d)	53.8 (d)	26.6 (t)
174.2 (s)	127.8 (s)	53.2 (d)	25.1 (d)
174.0 (s)	125.5 (d)	53.1 (d)	23.2 (q)
173.2 (s)	123.2 (d)	52.9 (d)	23.2 (t)
173.0 (s)	120.9 (d)	52.8 (d)	23.1 (t)
172.8 (s)	118.7 (d)	49.5 (d)	20.8 (q)
172.6 (s)	113.1 (d)	48.6 (t)	19.4 (q)
172.5 (s)	108.8 (s)	40.1 (t)	18.3 (q)
172.1 (s)	73.3 (d)	39.6 (t)	
171.7 (s)	69.7 (d)	39.4 (t)	
171.4 (s)	64.3 (t)	38.9 (t)	
170.3 (s)	62.1 (d)	35.3 (t)	
137.2 (s)	60.9 (d)	34.8 (t)	
136.0 (s)	57.1 (d)	31.7 (t)	

【 0 0 3 2 】

上記FR901451物質はフレキシバクター (Flexibacter) 属

のFR901451物質生産菌が生産する物質として知られている（例えば、国際公開番号：WO93/02203号公報）。また該生産菌の1株フレキシバクター・spNo. 758株はブダペスト条約に基く国際寄託機関である工業技術院生命工学工業技術研究所に、寄託番号FERMBP-3420として寄託されている。

【0033】

また、上記FR901451物質の医薬として許容される塩としては、前記（2）～（4）に記載の化合物の医薬として許容される塩として例示した塩がそのまま例示される。

【0034】

上記のほか、エラスターゼ阻害活性を有する物質の例として、 $\alpha$ 1-アンチトリプシン、SLP1 (Secretory Leukocyte Protease Inhibitor) (American Review of Respiratory Disease Vol. 147, 1993, P442-446)、ウリナスタチン、コルヒチン、エリスロマイシン、クラリスロマイシン、ICI200, 880、ONO-5046 (American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine Vol. 153, P391-397)、抗エラスターゼ抗体等が挙げられる。

【0035】

この発明の難治性創傷の例としては、皮膚（例えば、褥瘡（床擦れ）、糖尿病に伴う足の潰瘍等）、足、胃および角膜等の潰瘍等が挙げられ、これらのうち、糖尿病に伴う足の潰瘍等の難治性皮膚潰瘍の治療にとくに好適である。

【0036】

この発明の難治性創傷の治療剤は、例えば難治性皮膚潰瘍の場合には通常は外用剤（例えば、ローション剤、軟膏剤、貼付剤、リニメント剤、エアゾール剤、懸濁剤、乳剤等）として使用されるが、このほか散剤、細顆粒剤、顆粒剤、錠剤、糖衣錠、注射剤、吸入剤、マイクロカプセル剤、カプセル剤、坐剤、液剤、シロップなどの慣用の医薬製剤の形で使用可能である。必要な場合、希釈剤または

崩解剤（たとえば蔗糖、乳糖、澱粉、結晶性セルロース、低置換ヒドロキシプロピルセルロース、合成ケイ酸アルミニウムなど）、結合剤（たとえばセルロース、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ポリプロピルピロリドン、ポリビニルピロリドン、ゼラチン、アラビアゴム、ポリエチレングリコールなど）、着色剤、甘味剤、滑沢剤（たとえばステアリン酸マグネシウムなど）その他を分散配合することができる。

### 【0037】

この発明の難治性創傷の治療剤の使用量は、症状等にもよるが、一般に外用剤においては、ヒト白血球エラスターゼ阻害活性を有する物質またはその医薬として許容される塩として0.001～10%程度の範囲で使用するのが適当である。

### 【0038】

次にこの発明の効果を試験例により説明する。

試験例（糖尿病ラット足潰瘍治癒促進作用）

目的：

この発明の化合物（塗布）の酢酸誘発足潰瘍に対する作用を、正常ラットと糖尿病ラットを用いて検討した。

使用化合物：

3(RS)-[[4-(カルボキシメチルアミノカルボニル)フェニルカルボニル]-L-バリル-L-プロリル]アミノ-1,1,1-トリフルオロ-4-メチル-2-オキソペンタンのナトリウム塩 (FR136706)

方法：

7週齢雄性SDラットに60mg/kgのstreptozotocin (STZ)を尾静脈内投与し糖尿病を誘発した。STZ投与14日後、糖尿病ラットおよび同週齢の対照ラットにエーテル麻酔で左足甲部皮内に氷酢酸20 $\mu$ Lを投与し、その部分を壊死させた。その2日後に壊死した表皮が残っていた場合、外科的に除去した。その後、FR136706 (0.2%溶液、PEG (ポリエチレングリコール) 400に溶解)の投与（患部に50 $\mu$ Lずつ塗布）を開始した。対照群にはPEG400を同様に塗布した。

酢酸投与の2日後より25日後まで、腫脹スコア（0：なし、1：軽度、2：



中程度、3：高度）を目視により評価し、また、潰瘍の長径と短径をノギスにて測定した。潰瘍面積は潰瘍の長径と短径から算出した。

結果：

結果は次表に示す通りである。

正常ラットの腫脹スコアは測定開始日が最大であった。その後徐々に回復し、酢酸投与22日後には腫脹スコアは0となった。一方、糖尿病ラットでは、腫脹のピークは酢酸投与7日後に見られ、その後徐々に回復したものの、その経過は正常ラットよりも遅延していた。FR136706は、正常ラットでは作用を示さなかったが、糖尿病ラットでは回復を促進させた。

糖尿病ラットの潰瘍面積は正常ラットよりも大きく、また、その縮小は正常ラットよりも遅延していた。FR136706は、正常ラットでは作用を示さなかったが、糖尿病ラットでは潰瘍面積の縮小を促進させている傾向が認められた。

【表 4】

足潰瘍モデルに対する作用

動物	検体	投与量 (%)	スコア						
			腫瘍スコア						
			腫瘍投与 2日後	腫瘍投与 8日後	腫瘍投与 11日後	腫瘍投与 15日後	腫瘍投与 18日後	腫瘍投与 22日後	腫瘍投与 25日後
正常ラット	PEG400		2.5 ±0.2 (6)	2.3 ±0.2 (6)	1.8 ±0.2 (6)	1.0 ±0.0 (6)	0.3 ±0.2 (6)	0.0 ±0.0 (6)	0.0 ±0.0 (6)
	FR136706	0.2	2.5 ±0.2 (6)	2.0 ±0.0 (6)	1.5 ±0.2 (6)	1.0 ±0.0 (6)	0.5 ±0.2 (6)	0.0 ±0.0 (6)	0.0 ±0.0 (6)
糖尿病ラット	PEG400		2.2 ±0.2 (6)	2.8 ±0.2 (6)	* 2.7 ±0.2 (6)	** 2.2 ±0.3 (6)	** 2.0 ±0.3 (6)	** 1.7 ±0.3 (6)	** 1.5 ±0.2 (6)
	FR136706	0.2	2.2 ±0.2 (6)	2.8 ±0.2 (6)	2.5 ±0.2 (6)	1.5 ±0.2 (6)	1.5 ±0.2 (6)	1.2 ±0.2 (6)	& 0.7 ±0.2 (6)

平均値±標準誤差 (例数)

&、&&：各々5%、1%で有意 (Wilcoxon 順位和検定)

【スコア】

【糖尿病ラット、PEG400 群と糖尿病ラット、FR136706、0.2%群のスコア、測定日毎】

\*, \*\*：各々5%、1%で有意 (Wilcoxon 順位和検定)

【スコア】

【正常ラット、PEG400 群と糖尿病ラット、PEG400 群のスコア、測定日毎】

【表 5】

足潰瘍モデルに対する作用

動 物	検 体	投与量 (%)	潰瘍面積 (mm <sup>2</sup> )						
			酢酸投与 2 日後	酢酸投与 8 日後	酢酸投与 11 日後	酢酸投与 15 日後	酢酸投与 18 日後	酢酸投与 22 日後	酢酸投与 25 日後
正常ラット	PEG400		58.88 ±4.31 (6)	70.29 ±6.13 (6)	52.61 ±6.36 (6)	24.99 ±2.82 (6)	1.51 ±0.78 (6)	0.00 ±0.00 (6)	0.00 ±0.00 (6)
	FR136706	0.2	58.37 ±6.08 (6)	71.42 ±8.43 (6)	53.21 ±5.11 (6)	18.32 ±4.55 (6)	0.69 ±0.36 (6)	0.00 ±0.00 (6)	0.00 ±0.00 (6)
糖尿病ラット	PEG400		69.28 ±5.33 (6)	95.58 ±8.62 (6)	86.03 ±7.71 (6)	51.63 ±6.12 (6)	23.38 ±1.42 (6)	15.94 ±3.90 (6)	11.05 ±1.68 (6)
	FR136706	0.2	69.17 ±5.64 (6)	91.77 ±6.16 (6)	72.38 ±10.37 (6)	41.00 ±10.80 (6)	16.10 ±6.43 (6)	12.08 ±3.73 (6)	6.99 ±1.71 (6)

平均値±標準誤差 (例数)

\*, \*\*: 各々5%, 1%で有意 (Student-t or Aspin-Welch)

[潰瘍面積]

[正常ラット、PEG400 群と糖尿病ラット、PEG400 群の測定日毎]

【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 難治性創傷の治療剤を提供する。

【解決手段】 ヒト白血球エラスターゼ阻害活性を有する物質を有効成分とする  
難治性創傷の治療剤。

【選択図】 なし

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000005245]

1. 変更年月日	1990年 8月17日
[変更理由]	新規登録
住 所	大阪府大阪市中央区道修町3丁目4番7号
氏 名	藤沢薬品工業株式会社

